

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker adalah masalah kesehatan masyarakat yang terbesar di negara maju maupun berkembang dan menjadi faktor kematian tertinggi. Kanker payudara merupakan salah satu penyebab kematian terbesar kedua di Amerika Serikat yang menyerang wanita setelah kanker paru dengan jumlah 40.000 wanita (Siegel *et al.*, 2014). Masalah kanker di Indonesia hampir 70% ditemukan dalam keadaan stadium yang sudah lanjut, karena masyarakat tidak menyadari tentang gejala yang ditimbulkan oleh kanker (Oemiati *et al.*, 2011). Menurut data GLOBOCAN tahun 2012, terbukti bahwa kanker payudara merupakan penyakit kanker dengan persentase kasus baru tertinggi sebesar 43,3%, dan persentase kematian sebesar 12,9% . Oleh sebab itu, kanker payudara menjadi masalah penting dalam dunia kesehatan dilihat dari peningkatan kejadian setiap tahunnya (Depkes RI, 2015). Terapi kanker yang sudah dilakukan hingga saat ini berupa pembedahan, radiasi, kemoterapi dan terapi hormon (Dipiro *et al.*, 2008). Namun, kekurangan dari pengobatan kemoterapi kanker yaitu memerlukan biaya tinggi, menimbulkan banyak efek samping bersifat toksik dan merusak jaringan lain yang normal, serta sering kali terjadi kegagalan dalam terapi kemoterapi (Ihbeheffinger *et al.*, 2013). Dari uraian diatas, usaha pengembangan alternatif pengobatan kanker terutama kanker payudara dengan eksplorasi tanaman obat perlu dilakukan.

Tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) merupakan tanaman yang memiliki potensi sebagai agen sitotoksik. Penelitian oleh Wang *et al.* (2007) mengenai ekstrak metanol daun sukun yang mengandung senyawa golongan flavonoid (*geranyl hydrochalcones*) yang memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan sel-sel kanker manusia diantaranya sel adenokarsinoma SPC-A-1, sel karsinoma kolon SW-480 dan sel karsinoma hati SMMC-7721 dengan IC₅₀ yang potensinya

mendekati nilai IC_{50} kontrol positif (9-fluorourasil). Penelitian lain pada bagian kayu sukun yang diekstrak dengan dietileter berpotensi untuk melawan sel kanker payudara T47D dengan mengurangi viabilitas sel, mengubah morfologi nukleus, dan menginduksi apoptosis atau kematian sel secara terprogram dengan IC_{50} 6,19 $\mu\text{g/mL}$. Pada fase sub-G1 mengalami apoptosis yang menjadi faktor utama berkurangnya viabilitas pada sel kanker payudara T47D (Arung *et al.*, 2009).

Tanaman nangka (*Artocarpus heterophyllus*) memiliki famili yang sama dengan sukun yaitu Moraceae yang juga memiliki potensi sebagai agen sitotoksik yang mengandung fenolik tinggi, termasuk flavonoid yang memiliki toksisitas tinggi terhadap sel kanker paru A549 dengan IC_{50} 35,26 $\mu\text{g/mL}$ (Patel & Patel, 2011). Ekstrak metanol biji nangka juga memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dan MCF-7 yang menunjukkan toksisitas yang tinggi pada sel kanker dan nontoksik pada sel normal (Hari & Divya, 2014). Analisis fitokimia ekstrak metanol daun nangka menunjukkan kandungan senyawa utama berupa flavonoid dan fenol sebesar 86,75 mg/g dan 524,86 mg/g (Raaman & Sivaraj, 2014). Beberapa aktivitas farmakologis daun nangka yaitu efek hipoglikemik dengan menurunkan kadar gula darah puasa, HbA1c 6,8 menjadi 4,5 dan hipolipidemia dengan menurunkan kolesterol, trigliserid dan LDL secara signifikan (Omar *et al.*, 2011). Selain itu, daun nangka berpotensi sebagai agen sitotoksik pada sel kanker PC-3 (*Human Prostate Cancer Cells*) dan H460 (*Human Lung Cancer Cells*) (Di *et al.*, 2013).

Tanaman selanjutnya yaitu tanaman kluwih (*Artocarpus camansi*) yang memiliki marga yang sama dengan sukun dan nangka. Hasil fitokimia dari ekstrak etanol daun kluwih mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida, antrakuinon, dan steroid yang memiliki aktivitas farmakologis berupa antidiabetes (Marianne *et al.*, 2011), selain itu dapat mengobati alergi pada kulit (Salonga *et al.*, 2014) dan sitotoksik pada sel MCF-7, sel kanker paru A549, dan *Chinese hamster ovary noncancer cell* (Tantengco & Jacinto, 2015).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, maka mendorong dilakukan penelitian ekstrak metanol pada bagian daun sukun, nangka dan kluwih untuk menguji adanya aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTT.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian, maka rumusan masalah penelitian ini adalah :

1. Apakah ekstrak metanol daun sukun (*Artocarpus altilis*), nangka (*Artocarpus heterophyllus*), dan kluwih (*Artocarpus camansi*) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D?
2. Berapakah nilai IC_{50} ekstrak metanol daun sukun, nangka, dan kluwih terhadap sel kanker payudara T47D?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang telah disebutkan, maka tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak metanol daun sukun (*Artocarpus altilis*), nangka (*Artocarpus heterophyllus*), dan kluwih (*Artocarpus camansi*) terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Mengetahui nilai IC_{50} dari ekstrak metanol daun sukun, nangka, dan kluwih terhadap sel kanker payudara T47D.

D. Tinjauan Pustaka

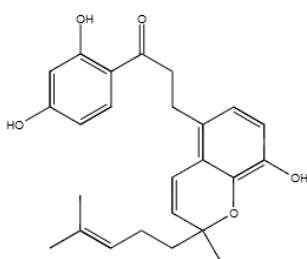
1. Tanaman Sukun (*Artocarpus altilis*)

a. Klasifikasi tanaman

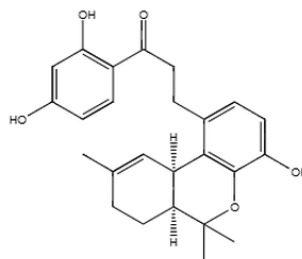
Kingdom	: <i>Plantae</i>	
Subkingdom	: <i>Mracheobionata</i>	
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>	
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>	
Anak kelas	: <i>Hamamelididae</i>	
Bangsa	: <i>Rosales</i>	
Suku	: <i>Moraceae</i>	
Marga	: <i>Artocarpus</i>	
Jenis	: <i>Artocarpus altilis</i>	(Sushmita & Nayeem, 2013)

b. Kandungan Kimia

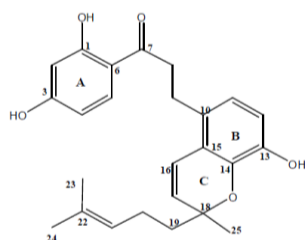
Senyawa aktif hasil isolasi daun sukun yaitu golongan flavonoid yang berupa geranil flavonoid, geranil dihidrokalkon (Wang *et al.*, 2007), flavonoid yang terprenilasi (Fajriah *et al.*, 2013), siklokomunol dan quercetin (Mozef *et al.*, 2015). Berikut struktur kimianya :



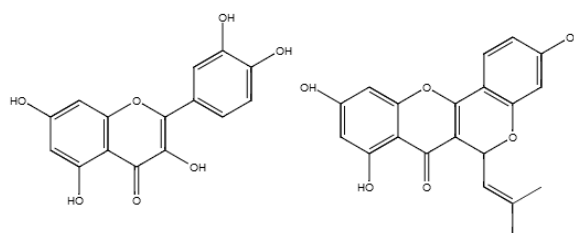
Gambar 1. Geranil flavonoid (Wang *et al.*, 2007)



Gambar 2. Geranil dihidrokalkon (Wang *et al.*, 2007)



Gambar 3. Flavonoid yang terprenilasi (Fajriah *et al.*, 2013)



Gambar 4. Quercetin dan Cyclocommunol (Mozef *et al.*, 2015)

c. Aktivitas Farmakologi

Daun sukun mengandung flavonoid yang memiliki efek antioksidan dengan IC_{50} 94,1 $\mu\text{g/mL}$ dan menurunkan kolesterol dengan dosis efektif 150 mg/kgBB (Mozef *et al.*, 2015).

2. Tanaman Nangka (*Artocarpus heterophyllus*)

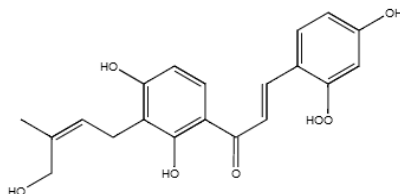
a. Klasifikasi Tumbuhan

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Mracheobionata</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Bangsa	: <i>Urticales</i>
Suku	: <i>Moraceae</i>
Marga	: <i>Artocarpus</i>
Jenis	: <i>Artocarpus heterophyllus</i>

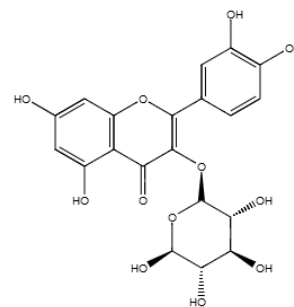
(Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991)

b. Kandungan Kimia

Senyawa aktif daun nangka yaitu artokarpusin B dari golongan flavonoid (Di *et al.*, 2013), dan isoquercitrin dari golongan polifenol (Omar *et al.*, 2011). Berikut struktur kimianya:



Gambar 5. Artocarpusin B (Di *et al.*, 2013)



Gambar 6. Isoquercitrin (Omar *et al.*, 2011)

c. Aktivitas Farmakologi

Bagian daun nangka memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} 42,59 $\mu\text{g/mL}$ (Raaman & Sivaraj, 2014) dan antikanker pada sel NCI-H460 dengan nilai IC_{50} sebesar 5,19 $\mu\text{g/mL}$ (Zheng *et al.*, 2014).

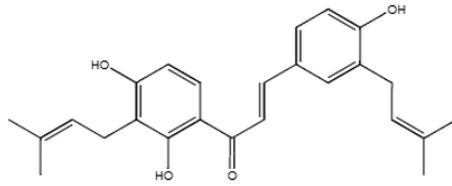
3. Tanaman Kluwih (*Artocarpus camansi*)

a. Klasifikasi Tumbuhan

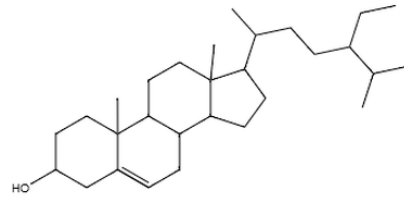
Kingdom	: Plantae	
Divisi	: Magnoliophyta	
Kelas	: Magnoliopsida	
Ordo	: Urticales	
Famili	: Moraceae	
Genus	: <i>Artocarpus</i>	
Spesies/jenis	: <i>Artocarpus camansi</i>	(Somashekhar <i>et al.</i> , 2013)

b. Kandungan kimia

Senyawa aktif dalam daun kluwih yaitu kalkon dari golongan flavonoid (Mariana *et al.*, 2013) dan β -sitosterol dari golongan steroid (Nasution *et al.*, 2014). Berikut ini struktur kimia dari senyawa aktif daun kluwih:



Gambar 7. Kalkon (Mariana et al., 2013)



Gambar 8. β -sitosterol (Nasution *et al.*, 2014)

c. Aktivitas Farmakologis

Daun kluwih memiliki aktivitas antidiabetes dengan menurunkan gula darah sebesar 87,67 mg/dL secara signifikan (Nasution *et al.*, 2014). Selain itu, daun kluwih efektif untuk mengobati alergi kulit (Salonga *et al.*, 2014). Pada kulit batang kluwih mempunyai efek sitotoksik terhadap sel HeLa dengan nilai IC_{50} sebesar 17,82 μ g/mL (Fatmawati, 2012).

4. Kanker

Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkendali, invasi jaringan lokal, dan metastasis. Kanker yang paling umum adalah kanker prostat, payudara dan paru-paru. Karsinogenesis merupakan penyebab kanker yang melalui proses inisiasi, promosi, konversi, dan progresi. Beberapa mutasi genetik dengan mengubah sel normal menjadi sel kanker dengan mekanisme kematian sel berupa apoptosis dan penuaan sel (Dipiro *et al.*, 2008).

Kanker payudara menyerang wanita dengan jumlah penderita tertinggi. Proses terjadinya kanker tersebut dapat berasal dari semua bagian struktur payudara, baik yang non-invasif (*in situ*) maupun invasif (menyebarkan). Lokasi kanker ini sebagian besar terjadi di jaringan duktus dan menyebar. Pasien kanker payudara perlu pemeriksaan status reseptor hormonal sebelum pemberian terapi, seperti Estrogen Reseptor (ER), Progesteron Reseptor (PR), dan *human growth factor receptor* (HER2). Tujuan pemeriksaan status reseptor tersebut untuk menentukan jenis terapi pasien dan klasifikasi jenis kanker payudara, diantaranya yaitu Luminal A, Luminal B, HER2-*positive* dan *Triple Negative Breast Carcinoma* (TNBC). Jika pasien wanita memiliki status ER-positif dan PR-positif maka menunjukkan respon terapi hormonal 70%, status HER2-positif dengan

terapi BINV-5, sedangkan jika ER-negatif dan PR-negatif maka respon hanya 40%, status HER2-positif dengan terapi BINV-7 (Gradishar *et al.*, 2015). Sel kanker payudara yang digunakan dalam penelitian tanaman obat dikategorikan menurut fenotip dan penyebarannya. Kelompok pertama, sel yang menyerupai luminal epitel yang memiliki jumlah fenotip yang tinggi seperti ER. Sel golongan ini akan tumbuh koloni yang menyatu di Matrigel (media semipadat), namun sel ini penyebarannya lemah. Jenis sel kanker payudara tersebut yaitu BT-483, MCF7, T47D, dan ZR-75. Kelompok kedua yaitu sel line BT-474, CAMA-1, MDA-MB134, MDA-MB361, MDA-MB453, MDA-MB468, dan SKBR3 yang menunjukkan sel epitel luminal yang lemah invasif secara invitro. Di matrigel, sebagian besar sel-sel ini tumbuh tidak menyatu, dan jarang mencapai konfluen penuh. Kelompok ketiga, yaitu sel MDA-MB435S, MDA-MB231, Hs578T, dan BT-549 yang bentuknya seperti mesenkim atau sel stroma yang memiliki fenotip fibroblastoid dan tumbuh sebagai koloni di Matrigel. Selain itu sel-sel ini sangat invasif secara invitro. (Saravanan *et al.*, 2014).

Tabel 1. Klasifikasi sel kanker payudara

Klasifikasi	Immunoprofile	Karakteristik lain	Jenis Sel
Luminal A	ER + , PR+/-, HER2 -	Ki67 (marker proliferasi sel) rendah	MCF-7,T47D, SUM185
Luminal B	ER+ , PR+/-, HER2 +	Ki67 tinggi	BT474, ZR-75
Basal	ER- , PR- , HER2-	Ki67 tinggi, endokrin tidak responsif	MDA-MB-468 , SUM190
Claudin-Low	ER- , PR-/- , HER2 -	Ki67, E-cadherin, claudin-3, claudinin-4 Rendah	BT5T9,MDA-MB-231
HER2	ER- , PR-, HER2 +	Ki67 tinggi	SKBR3, MDA-MB453

(Holliday and Speirs, 2011)

5. Sel T47D

Sel T47D merupakan sel yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun yang sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro*. Media sel T47D yaitu RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640. Sel ini termasuk *cell line adherent* yang mengekspresikan ER- β dibuktikan dengan adanya respon peningkatan proliferasi sebagai akibat pemaparan 17 β -estradiol. Sel ini memiliki *doubling time* 32 jam dan diklasifikasikan sebagai sel yang mudah mengalami diferensiasi karena memiliki ER+. Sel ini sensitif terhadap doxorubicin dan mengalami *missense mutation* pada residu 194 gen p53. Morfologi sel T47D seperti sel epitel yang mengekspresikan protein p53 yang termutasi. Selain itu, sel T47D termasuk sel kanker payudara ER/PR-positif dan sensitif terhadap doksorubisin (CCRC UGM, 2003). Menurut fungsi biologis sel T47D menunjukkan bahwa protein yang terlibat dalam stimulasi pertumbuhan sel, mekanisme anti-apoptosis dan kankerogenesis lebih kuat pada sel T47D daripada sel MCF7. Protein ini termasuk G1/S-spesifik *cyclin*-D3 dan proinhibitin. Sedangkan protein yang terlibat dalam transkripsi represi dan regulasi apoptosis, termasuk transkripsi represor NF-X1, nitrilase homolog 2 dan interleukin-10, lebih kuat dalam sel MCF7 dibandingkan dengan T47D. Protein sebagai biomarker kanker payudara, yaitu cathepsin D, cathepsin B, protein S100-A14, protein *heat shock* beta-1 (HSP27) dan antigen nuklir sel (PCNA) (Aka *et al.*, 2012).

Tabel 2. Pilihan Regimen Obat Kemoterapi Kanker Payudara dengan HER2 Negatif

Dose Dence AC + Paclitaxel	Docetaxel Siklofosfamid
Dose Dence AC Siklus 1–4	Hari 1:
Hari 1: Doksorubisin 60 mg/m ² IV + Siklofosfamid 600 mg/m ² IV.	Dosetaxel 75 mg/m ² IV + Siklofosfamid 600mg/m ² IV.
Siklus diulang setiap 2 minggu.	<i>Growth factor</i> direkomendasikan dengan regimen ini.
Hari 1: Paklitaxel 175 mg/m ² IV.	Siklus diulang setiap 3 minggu untuk 4 siklus
Siklus diulang setiap 2 minggu untuk 4 siklus	

(Dipiro *et al.*, 2008)

6. Metode MTT

MTT *assay* bersifat sensitif, kuantitatif dan secara kolorimetri digunakan untuk mengukur viabilitas, proliferasi dan aktivasi sel. MTT *assay* menggunakan prinsip reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium dalam mitokondria pada sel-sel hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air tapi larut dalam SDS 10%. Penambahan *reagen stopper* SDS 10% yang bersifat detergenik akan melarutkan kristal ungu dan diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader* (Tussanti & Johan, 2014).

E. Landasan Teori

Beberapa tanaman yang diketahui memiliki potensi sebagai agen sitotoksik yaitu sukun, nangka, dan kluwih yang memiliki genus yang sama yaitu *Artocarpus*. Penelitian dari ke tiga tanaman tersebut telah banyak dilakukan, seperti pada bagian daun, kayu, dan biji dengan aktivitas farmakologis yang berbeda-beda. Bagian kayu sukun (*Artocarpus altilis*) mengandung senyawa artokarpin (golongan flavonoid) yang dapat mendorong apoptosis dan pembentukan fase subG1 pada sel kanker payudara T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 6,19 $\mu\text{g/mL}$ (Arung *et al.*, 2009) dan juga berpotensi sebagai agen sitotoksik pada sel kanker payudara MCF-7 dan MDA-MB-231 dengan IC_{50} sebesar 3,3 dan 3,8 $\mu\text{g/mL}$ (Wang *et al.*, 2004). Selanjutnya, penelitian Wang *et al.* (2007) mengenai ekstrak daun sukun yang mengandung *geranyl dihydrochalcones* terbukti memiliki aktivitas sitotoksik yang poten terhadap sel kanker manusia SPC-A-1 dan SW-480 (kanker paru), SMMC-7721 (kanker hati) dengan IC_{50} masing-masing sebesar 28,14; 34,62; 49,86 $\mu\text{g/mL}$. Tanaman genus *Artocarpus* selanjutnya yaitu tanaman nangka (*Artocarpus heterophyllus*) yang terbukti sebagai sumber senyawa fenolik yang tinggi, termasuk flavonoid (Raaman and Sivaraj, 2014). Penelitian Patel & Patel (2011) memaparkan ekstrak metanol dari biji nangka terbukti berpotensi sebagai agen sitotoksik terhadap sel kanker paru A549 dengan nilai IC_{50} 35,26 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan pada sel HeLa dan

MCF-7 tidak memiliki aktivitas sitotoksik. Di *et al.* (2013) membuktikan bahwa kandungan flavonoid pada ranting daun nangka terbukti memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker PC-3 (*Human prostate cancer cells*) dan H460 (sel kanker paru) dengan nilai IC_{50} masing-masing 7,9 $\mu\text{g/mL}$ dan 8,3 $\mu\text{g/mL}$. Selain daun dan biji, kayu nangka terbukti memiliki aktivitas sitotoksik poten yang diuji pada sel kanker hati SMMC-7721 dengan IC_{50} sebesar 15,85 dan 12,06 $\mu\text{g/mL}$ (Zheng *et al.*, 2014). Tanaman *Artocarpus* berikutnya yaitu kluwih (*Artocarpus camansi*), Tantengco & Jacinto (2015) melakukan penelitian pada ekstrak daun kluwih dengan memperoleh hasil adanya aktivitas sitotoksik terhadap MCF-7, A549 dan *Chinese hamster ovary noncancer cell* dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 9,58 $\mu\text{g/mL}$, 42,66 $\mu\text{g/mL}$, dan 43,42 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu, daun kluwih juga memiliki potensi pada sel HeLa dengan IC_{50} sebesar 17,82 $\mu\text{g/mL}$ (Fatmawati, 2012). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, diketahui bahwa penelitian bagian daun sukun, nangka, dan kluwih terhadap sel kanker payudara T47D belum banyak diteliti sehingga mendorong dilakukan penelitian untuk mengetahui adanya aktivitas sitotoksik pada ekstrak metanol daun sukun, nangka, dan kluwih yang termasuk dalam genus yang sama yaitu *Artocarpus* terhadap sel kanker payudara T47D.

F. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori, dapat diduga bahwa ekstrak metanol daun sukun (*Artocarpus altilis*), nangka (*Artocarpus heterophyllus*), dan kluwih (*Artocarpus camansi*) mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.